Ferritin

Ferritine **Elecsys® 1010/2010/MODULAR ANALYTICS E170**

Français – 2001-05 – 1865889001 05 06

11820982 100 tests

Domaine d'utilisation
Test immunologique pour la détermination quantitative *in vitro* de la ferritine dans le sérum et le plasma.
Ce test par électrochimiluminescence "ECLIA" est adapté aux dosages immunologiques sur les analyseurs Elecsys 1010/2010 et MODULAR ANALYTICS E170 (module Elecsys) de Roche.

Tous les appareils ne sont pas disponibles dans tous les pays

Généralités*
La ferritine est une macromolécule d'un poids moléculaire : 440 kD (selon la teneur en fer). Elle se compose d'une enveloppe protéique (apoferritine) de 24 sous-unités et d'un noyau contenant en moyenne env. 2500 ions Fe^{+++} (dans la ferritine du foie et de la rate).[1]
La ferritine tend à former des oligomères. Lorsqu'elle est présente en excès dans les cellules des organes de stockage, on observe une tendance à la concentration en hémosidérine semicristalline dans les lysosomes.
Au moins une vingtaine d'isoformes de la ferritine peuvent être identifiées par focalisation électrique.[4] Cette microhétérogénéité résulte de différences dans les teneurs des sous-unités H (Heavy) acides et L (Light) basiques. Les isoferritines basiques assurent le stockage du fer à long terme. On les trouve principalement dans le foie, la rate et la moëlle osseuse.[1,2]
Les isoferritines acides sont principalement présentes dans le myocarde, le placenta et les cellules tumorales. Leur teneur en fer est plus basse. Ces isoferritines semblent faire office d'intermédiaires pour le transport du fer dans différentes synthèses.[5,6,7]
Le dosage de la ferritine est particulièrement indiqué pour l'exploration du métabolisme martial. Au début d'un traitement à base de fer, le dosage de la ferritine permet d'obtenir un taux représentatif des réserves de fer du patient. Un stockage insuffisant dans le système réticuloendothélial (SRE) se détecte très tôt.[3]
Des essais cliniques ont montré que 20 ng/ml constituent une valeur seuil utile pour la détection d'une déplétion en fer. Cette valeur indique avec fiabilité l'épuisement des réserves de fer mobilisables pour la synthèse de l'hémoglobine. La carence martiale correspond à un taux de ferritine inférieur à 12 ng/ml. Ces deux valeurs ne nécessitent aucune clarification par des analyses supplémentaires, même lorsque le bilan sanguin reste normal sur le plan cytologique. On parle de manque de fer déclaré lorsqu'un taux de ferritine bas s'accompagne d'anémie hypochrome ou d'anémie microcytaire.[1]
Lorsque le taux de ferritine est élevé et qu'un désordre de la répartition peut être exclu, il s'agit d'une surcharge en fer de l'organisme. La valeur seuil est de 400 ng/ml de ferritine. Des taux de ferritine élevés se rencontrent également en présence des tumeurs suivantes: leucémie aiguë, maladie de Hodgkin et cancer du poumon, du colon, du foie et de la prostate.
Le dosage de la ferritine est un bon indicateur des métastases hépatiques. Des études montrent que 76% des patients présentant des métastases hépatiques ont un taux de ferritine supérieur à 400 ng/ml. Un taux élevé peut également résulter de la nécrose cellulaire, du blocage de l'érythropoïèse ou de l'augmentation de la synthèse dans le tissu tumoral.
Deux anticorps monoclonaux de souris, le M-4.184 et le M-3.170, sont utilisés dans la réaction pour former le complexe sandwich.

Principe*
Méthode sandwich. Durée totale du cycle analytique : 18 minutes.
- 1ère incubation : Une prise d'essai de 15 µl d'échantillon est mise en présence d'un anticorps monoclonal anti-ferritine biotinylé et d'un anticorps monoclonal anti-ferritine marqué au ruthénium** pour former un complexe.
- 2e incubation : Les microparticules tapissées de strepavidine sont ajoutées; le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Une courbe de référence est mémorisée dans le code barres du réactif et est réajustée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en deux points.

** $Ru(bpy)_3^{2+}$:Tris(2,2'-bipyridyl)ruthénium(II)

Réactifs – Contenu du coffret et concentrations*
Coffret Ferritine Elecsys, Réf. 11820982 - 100 tests
M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 6,5 ml (bouchon transparent) :
Microparticules tapissées de streptavidine, 0,72 mg/ml, capacité de liaison : 470 ng biotine/mg de microparticules; conservateur.
R1 Anticorps anti-ferritine~biotine, 1 flacon contenant 10 ml (bouchon gris): anticorps monoclonal de souris anti-ferritine biotinylé 3,0 mg/l; tampon phosphate 100 mmol/l, pH 7,4; conservateur.
R2 Anticorps anti-ferritine~$Ru(bpy)_3^{2+}$, 1 flacon contenant 10 ml (bouchon noir) : anticorps monoclonaux de souris anti-ferritine marqués au ruthénium 6,0 mg/l; tampon phosphate 100 mmol/l, pH 7,4; conservateur.

Précautions d'emploi et mises en garde
Pour diagnostic *in vitro*.
Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.
L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs*
Les réactifs contenus dans le coffret sont prêts à l'emploi et ne peuvent être utilisés séparément.
Toutes les informations nécessaires au déroulement du test sont mémorisées sur les codes barres des flacons de réactifs et sont saisies automatiquement.

Conservation et stabilité*
Ranger le coffret Ferritine Elecsys entre 2 et 8°C **en position verticale**, de manière à ce que toutes les microparticules soient rassemblées lors de l'homogénéisation qui précède l'analyse.

Stabilité :
Avant ouverture, entre 2 et 8°C : jusqu'à la date de péremption indiquée
Après ouverture, entre 2 et 8°C : douze semaines
Sur E170 et Elecsys 2010 : six semaines
Sur Elecsys 1010 : quatre semaines (conservation alternée au réfrigérateur et dans l'appareil, flacons ouverts au maximum 20 heures).

Prélèvement et préparation des échantillons*
Seuls les échantillons suivants ont été testés :
Sérum recueilli sur tube de prélèvement standard.
Plasma recueilli sur héparinate de lithium, de sodium, EDTA tripotassique ou citrate de sodium. En cas d'utilisation de citrate de sodium, les résultats doivent être corrigés de +10%. (Critère d'acceptabilité : recouvrement 90–110% de la valeur du sérum ou pente 0,9–1,1 + coefficient de corrélation >0,95 + ordonnée à l'origine <± 2 x limite de détection analytique.)
Stabilité : sept jours entre 2 et 8°C, douze mois à –20°C.[13]
Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.
Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur.
Ne pas utiliser d'échantillons ou solutions de contrôle stabilisés par de l'azide.
S'assurer avant l'analyse que la température des échantillons, des calibrateurs et des contrôles se situe à 20–25°C.
En raison des risques d'évaporation, il est recommandé de doser les échantillons, les contrôles et les calibrateurs dans les deux heures qui suivent leur mise en place sur les analyseurs.

Ferritine Elecsys - Réactifs et matériel nécessaires*
Contenu du coffret
Réf. 11820982, Coffret Ferritine Elecsys pour 100 tests :
- M Microparticules tapissées de streptavidine
- R1 Anticorps anti-ferritine~biotine
- R2 Anticorps anti ferritine~$Ru(bpy)_3^{2+}$

Réactifs et matériel auxiliaires nécessaires
- Réf. 11821008, Ferritine CalSet Elecsys, 4 x 1 ml
- Réf. 11776452, PreciControl Tumor Marker Elecsys :
  PreciControl Tumor Marker 1 pour 2 x 2 ml et PreciControl Tumor Marker 2 pour 2 x 2 ml
- Réf. 11731416, PreciControl Universal Elecsys :
  PreciControl Universal 1 pour 2 x 2 ml et PreciControl Universal 2 pour 2 x 2 ml
- Réf. 11732277, Diluent Universal Elecsys, 2 x 18 ml, milieu de dilution de l'échantillon, ou
  Réf. 03183971, Diluent Universal Elecsys, 2 x 40 ml, milieu de dilution de l'échantillon
- Equipement habituel de laboratoire
- Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Matériel auxiliaire pour Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :
- Réf. 11662988, ProCell Elecsys, 6 x 380 ml, tampon système
- Réf. 11662970, CleanCell Elecsys, 6 x 380 ml, solution de lavage pour la cellule de mesure
- Réf. 11930346, SysWash Elecsys, 1 x 500 ml, additif à la solution de lavage
- Réf. 11933159, Adaptateur pour SysClean
- Réf. 11706829, Assay Cup Elecsys 1010, 12 x 32 cuvettes réactionnelles ou
  Réf. 11706802, Assay Cup Elecsys 2010, 60 x 60 cuvettes réactionnelles
- Réf. 11706799, Assay Tip Elecsys 2010, 30 x 120 embouts de pipette

Matériel auxiliaire pour MODULAR ANALYTICS E170:
- Réf. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l, tampon système
- Réf. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l, solution de lavage pour la cellule de mesure
- Réf. 03023141, PC/CC-Cups, 50 godets pour la thermorégulation de ProCell M et de CleanCell M
- Réf. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml, solution de lavage pour la fin de la série et pour le rinçage en cas de changement de réactif
- Réf. 12102137, AssayCups/AssayTips Combimagazin M, 48 blocs de 84 tubes à essai/ embouts de pipettes, sacs pour déchets
- Réf. 03023150, WasteLiner (sacs pour déchets)
- Réf. 03027651, SysClean Adapter M, adaptateur M pour SysClean

Pour les trois appareils:
- Réf. 11298500, SysClean Elecsys, 5 x 100 ml, solution de lavage du système

Disponible uniquement aux Etats-Unis:
- Réf. 11822128, Ferritin CalCheck Elecsys, à trois niveaux de concentration

Mode opératoire*
Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer au mode d'emploi de l'appareil utilisé et vérifier que les réactifs, les solutions auxiliaires et les consommables nécessaires à la réalisation du test sont disponibles en quantité suffisante.
L'analyseur effectue automatiquement l'homogénéisation des microparticules. Les informations spécifiques du test mémorisées sur l'étiquette code barres doivent être saisies. Si, exceptionnellement, le code barres ne peut être lu par l'appareil, saisir manuellement la série des 15 chiffres inscrits sur l'étiquette.
E170/Elecsys 2010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20°C avant le chargement et les placer dans le plateau réactifs de l'appareil thermostaté à 20°C. Eviter la formation de mousse. L'analyseur **gère** le contrôle de la température, l'ouverture et la fermeture des flacons.
Elecsys 1010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20–25°C et les placer dans le plateau réactifs/échantillons de l'appareil (température ambiante 20–25°C). Eviter la formation de mousse. **Ouvrir** les flacons avant la mise en route de l'analyseur, puis les **refermer** et les replacer au réfrigérateur après la série de dosages.

Ferritin

Ferritine **Elecsys® 1010/2010/MODULAR ANALYTICS E170**

Français

Calibration*

Le test Ferritine Elecsys a été calibré selon le test Enzymun-Test par rapport à la préparation "Reagent for ferritin (Human liver 80/602)" du N.I.B.S.C.[9]
Le code barres du flacon réactif contient toutes les informations spécifiques de la calibration du lot, la courbe de référence y est mémorisée. Le réajustement de la courbe pour l'appareil utilisé est effectué à l'aide des 2 solutions Ferritine CalSet.
Fréquence de calibration : Effectuer une calibration par lot en utilisant un réactif frais (ayant été enregistré au maximum 24 heures par l'appareil).
Une nouvelle calibration est recommandée pour :
E170/Elecsys 2010 :
- après un mois (28 jours) pour un même lot de réactifs
- après sept jours pour un même flacon de réactif resté sur l'appareil

Elecsys 1010 :
- à chaque nouveau coffret
- après sept jours à une température ambiante entre 20 et 25°C
- après sept jours à une température ambiante entre 25 et 32°C

E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :
- quand elle s'avère nécessaire : par ex. si les résultats des sérums de contrôle se situent en dehors des limites de confiance.

Validation de la calibration : Le logiciel de l'appareil vérifie la validité de la courbe et affiche les anomalies.

Contrôle de qualité*

Utiliser PreciControl Universal 1 et PreciControl Universal 2 Elecsys ou d'autres sérums de contrôle appropriés.
Il est recommandé de doser les sérums de contrôle 1 et 2 en simple au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque nouveau coffret et lors d'une calibration. Cette fréquence peut varier selon les exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance.
Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats sont situés en dehors des limites de confiance définies par le fournisseur.

Expression des résultats*

E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 calculent automatiquement le taux de ferritine de chaque échantillon. Les résultats sont exprimés au choix en ng/ml ou en µg/l.

Limites d'utilisation - Interférences*[9]

La bilirubine (< 650 mg/l ou 65 mg/dl), l'hémolyse (Hb < 0,5 g/dl), la lipémie (Intralipid < 33 g/l ou 3 300 mg/dl), la biotine < 50 ng/ml n'influencent pas le résultat.
Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.[9]
Le résultat n'est pas influencé par le facteur rhumatoïde jusqu'à 2 500 U/ml.
Le dosage peut être réalisé sur des sérums de patients dialysés.
Il n'a pas été observé d'effet crochet pour des concentrations ⩽100 000 ng/ml.
L'influence de 19 médicaments fréquemment administrés a été recherchée *in vitro* : aucune interférence n'a été observée.
Les ions Fe^{++} et Fe^{+++} ne gênent pas aux concentrations thérapeutiques.
Comme pour tous les tests contenant des anticorps monoclonaux de souris, on peut obtenir des résultats erronés avec des sérums de patients ayant reçu des anticorps monoclonaux de souris dans un but thérapeutique ou de diagnostic. Ces risques sont toutefois minimisés dans le test Ferritine Elecsys.
Dans de rares cas, des titres très élevés d'anticorps anti-streptavidine et anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences.
Pour le diagnostic, les résultats du test Ferritine Elecsys doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats des autres examens.

Domaine de mesure*[9]

0,500–2000 ng/ml (défini par la limite de détection et le maximum de la courbe de référence). Les taux situés au-dessous de la limite de détection sont exprimés de la manière suivante : < 0,500 ng/ml, les taux situés au-dessus du domaine de mesure de la manière suivante : > 2000 ng/ml ou 100000 ng/ml pour les échantillons dilués (1/ 50).

Dilution des échantillons

Les échantillons présentant des concentrations en ferritine > 2000 ng/ml peuvent être dilués au 1/50 dans le Diluent Universal, manuellement ou automatiquement sur l'appareil. La concentration obtenue avec l'échantillon dilué doit être > 40 ng/ml. Les analyseurs E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 gèrent la dilution et le calcul du résultat. Si la dilution est effectuée manuellement, multiplier le résultat obtenu par le facteur de dilution.

Domaine de référence*[8]

Les résultats suivants ont été obtenus à partir d'une étude réalisée avec le test Enzymun-Test Ferritine. 224 échantillons de sujets sains ont été analysés (hommes n = 120, femmes en majorité dans la préménopause (n = 104). Les valeurs indiquées correspondent aux 5e et 95e percentiles.
Hommes entre 20 et 60 ans: 30–400 ng/ml
Femmes entre 17 et 60 ans: 13–150 ng/ml

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs de référence et établir ses propres valeurs selon la population examinée.

Performances analytiques*[9]

Précision

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs Elecsys. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.
La précision a été déterminée à l'aide de pools de sérums humains et des sérums de contrôle, chaque échantillon a été analysé 6 fois par jour pendant 10 jours (n = 60) selon un protocole modifié (EP5-A) du N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standards) ; précision intra-série sur E170 : n = 21.

Elecsys 1010/2010		Précision intra-série		Précision inter-série	
Echantillon	$\bar{x}$ ng/ml	s ng/ml	CV %	s ng/ml	CV %
Sérum humain 1	20,7	0,57	2,8	0,82	3,9
Sérum humain 2	279	4,35	1,6	8,55	3,1
Sérum humain 3	1997	32,6	1,6	49,4	2,5
PreciControl U 1	71,3	1,52	2,1	2,12	3,0
PreciControl U 2	29,2	0,58	2,0	1,09	3,7
PreciControl TM 1	28,4	0,64	2,3	1,06	3,7
PreciControl TM 2	218	3,27	1,5	6,50	3,0

E170	Précision intra-série			Précision inter-série		
Echantillon	$\bar{x}$ ng/ml	s ng/ml	CV %	$\bar{x}$ ng/ml	s ng/ml	CV %
Sérum humain 1	25,2	0,46	1,8	24,9	0,92	3,7
Sérum humain 2	125	4,20	3,4	120	3,43	2,9
Sérum humain 3	1476	37,8	2,6	1625	179	11,0
PreciControl U 1	93,9	1,62	1,7	91,7	2,73	3,0
PreciControl U 2	28,1	0,47	1,7	27,1	0,79	2,9
PreciControl TM 1	-	-	-	21,7	0,76	3,5
PreciControl TM 2	-	-	-	205	7,76	3,8

Sensibilité (limite de détection analytique)

0,50 ng/ml
La limite de détection correspond au taux le plus faible de ferritine mesurable qui puisse être différencié de zéro. Elle représente la concentration du standard le plus faible de la courbe de référence + 2s (calibrateur de référence, standard 1 + 2s, précision intra-série n = 21).

Spécificité analytique

Ferritine hépatique humaine 100 %
Ferritine splénique humaine 85 %
Ferritine cardiaque humaine 1 %

Comparaison des méthodes

Une comparaison entre le test Ferritine Elecsys (y) et le test Enzymun-Test Ferritine (x) sur des échantillons de patients hospitalisés a permis d'établir les corrélations suivantes :
Nombre d'échantillons analysés : 81
Passing/Bablok[10-12] Régression linéaire
y =-3,65 + 1,02x y = -1,55 + 1,01x
r = 0,998 r = 0,998
s(md68) = 5,903 Sy.x = 9,416
Les concentrations des échantillons étaient situées entre env. 12 et env. 860 ng/ml.

Bibliographie

1 Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Ferritin in Iron Metabolism - Diagnosis of Anemieas (2eédition). Springer-Verlag 1995;ISBN 3-211-82525-8 et ISBN 0-387-82525-8.
2 Kaltwasser JP, Werner E. Serumferritin: Methodische und Klinische Aspekte. Springer Verlag (1980).
3 Albertini A, Arosio P, Chiancone E, Drysdale J (éditeurs). Functional aspects of isoferritins. Dans: Jacobs A, Hodgetts J, Hoy TG. Ferritins and isoferritins as biochemical markers. Elsevier, Amsterdam 1984;113–127.
4 Arosio P, Levi S, Gabri E et coll. Heterogeneity of ferritin II: Immunological aspects. Dans: Albertini A, Arosio P, Chiancone E, Drysdale J (éditeurs). Ferritins and isoferritins as biochemical markers. Elsevier, Amsterdam 1984;33–47.
5 Morikawa K, Oseko F, Morikawa S. A role for ferritin in hematopoiesis and the immune system. Leuk-Lymphoma 1995;18(5-6):429–33.
6 Borch-Iohnson B. Determination of Iron status: brief review of physiological effects on iron measures. Analyst 1995;120(3):891–3.
7 Cook-JD, Skikne-BS, Baynes RD. Iron deficiency: the global perspective. Adv-Exp-Med-Biol 1994;356:219–28.
8 Lotz J, Hafner G, Prellwitz W. Reference Study for Ferritin Assays. Kurzmitteilung Cin Lab 1997;43(11):993–994.
9 Documentation de Roche
10 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
11 Passing H, Bablok W. Comparison of Several Regression Procedures for Method Comparison Studies and Determination of Sample Sizes. J Clin Chem Clin Biochem 1984;22:431–445.
12 Bablok W et coll. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.
13 Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B.List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure dans: Samples: From the Patient to the Laboratory. GIT-Verlag, Darmstadt 1996:14. ISBN 3-928865-22-6.

* Pour de plus amples informations, se référer au manuel d'utilisation des analyseurs MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010, au dossier Information-produit Ferritine Elecsys et aux notices d'utilisation Ferritine CalSet, PreciControl Tumor Marker et Diluent Universal.

= Modifications importantes. Les modifications concernant les données contenues dans le code barres doivent être entrées manuellement.

©2001 Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

CE

2001-05

1865889001 06 06

Roche